



(19)

(11) Publication number: 2

Generated Document.

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(21) Application number: 10351401

(51) Intl. Cl.: C12M 1/00 C12N 15

(22) Application date: 10.12.98

| | | |
|-------------------------------------|----------|----------------------------------|
| (30) Priority: | | (71) Applicant: NIPPON LASER DEN |
| (43) Date of application | 20.06.00 | (72) Inventor: HATTORI SHUZO |
| publication: | | YONEDA KATSUMI |
| (84) Designated contracting states: | | (74) Representative: |

(54) DIVIDED MICROINJECTOR

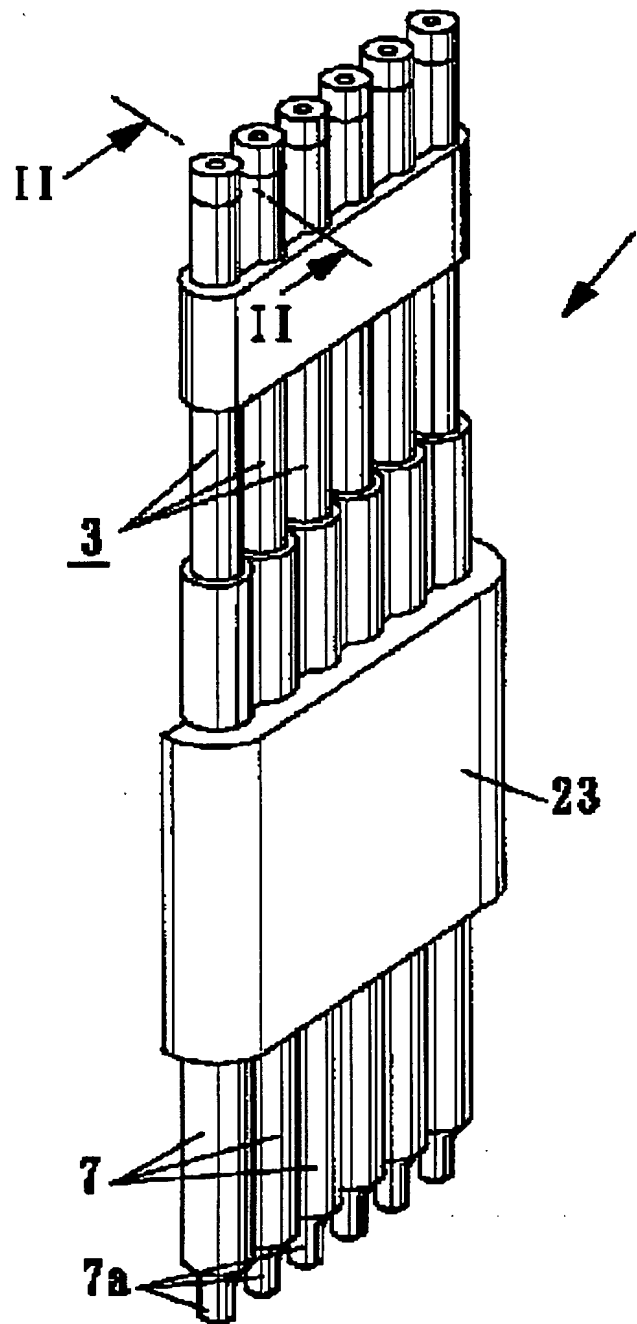
(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a divided microinjector (1) capable of dividedly injecting a constant volume of a specimen to a substrate, (2) capable of surely dividedly injecting only a specific specimen and capable of simplifying a chip-making device at a low cost, (3) capable of efficiently preparing many kinds of specimen chips, and (4) capable of integrally maintaining the specimen as a divided injector unit.

SOLUTION: This divided microinjector has plural hollow shaft members. The hollow shaft members have shaft diameters corresponding to the arrangement resolution of cells for adsorbing and fixing specimens on a specimen plate. The shaft tip portions of the hollow shaft members

are formed in a small diameter. The hollow shaft members have fine spaces movably in the axial direction, and movable members are freely fit into the fine spaces. Specimen receivers in which specimen solutions to be dividedly injected are preliminarily stored are disposed in the hollow shaft members. The movable members are moved with driving members in the axial direction. The specimen solutions flowed in the fine spaces of the hollow shaft members from the specimen receivers are extruded in fine constant volumes with the movement of the movable members.

COPYRIGHT: (C) 2000, JPO



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-166535

(P2000-166535A)

(43) 公開日 平成12年6月20日 (2000.6.20)

| (51) Int.Cl. ⁷ | 識別記号 | F I | テマコード (参考) |
|---------------------------|------|---------------|-------------|
| C 1 2 M 1/00 | | C 1 2 M 1/00 | A 4 B 0 2 9 |
| C 1 2 N 15/00 | | C 1 2 N 15/00 | Z |

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 6 頁)

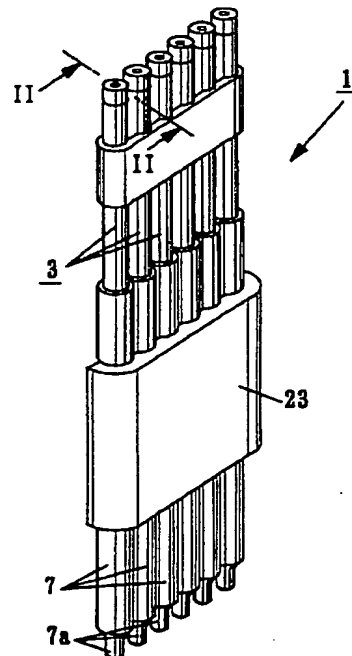
| | | | |
|-----------|--------------------------|----------|--|
| (21) 出願番号 | 特願平10-351401 | (71) 出願人 | 000230467 日本レーザ電子株式会社 名古屋市熱田区三本松町20番9号 |
| (22) 出願日 | 平成10年12月10日 (1998.12.10) | (72) 発明者 | 服部 秀三 愛知県愛知郡長久手町大字長湫字武蔵塚42-1 |
| | | (72) 発明者 | 米田 勝實 名古屋市熱田区三本松町20番9号 日本レーザ電子 株式会社内 |
| | | (74) 代理人 | 100081466 弁理士 伊藤 研一 Fターム (参考) 4B029 AA23 AA27 CC01 CC03 CC08 |

(54) 【発明の名称】 微量分注針体

(57) 【要約】

【課題】 基板に対して試料を定量分注することができる分注針ユニットの提供。特定の試料のみを確実に分注することができ、しかもチップ作製装置を簡易化及び低コスト化することができる微量分注針体の提供。多種類の試料チップを効率的に作製することができる微量分注針体の提供。試料を分注針単位で一体管理することができる微量分注針体の提供。

【解決手段】 試料プレート上にて試料が吸着固定されるセルの配置分解能に応じた軸径からなり、軸先端部が小径に形成された中空軸部材にて軸線方向へ移動可能に微小間隙を有して可動子を遊嵌する。中空軸部材に、分注される試料溶液が予め溜められた試料収容体を設ける。駆動部材により可動子を軸線方向へ移動させる。可動子の移動に伴って試料収容体から中空軸部材の微小間隙内に流入した試料溶液を微量で定量吐出する。



【特許請求の範囲】

【請求項1】試料プレート上にて試料が吸着固定されるセルの配置分解能に応じた軸径からなり、軸先端部が小径に形成された中空軸部材と、該中空軸部材内にて軸線方向へ移動可能に微小間隙を有して遊嵌される可動子と、中空軸部材に設けられ、分注される試料溶液が予め溜められた試料収容体と、可動子を軸線方向へ移動する駆動部材とからなり、可動子の移動駆動に伴って試料収容体から中空軸部材の微小間隙内に流入した試料溶液を微量で定量吐出する微量分注針体。

【請求項2】請求項1において、駆動部材は可動子の非吐出側に設けられる永久磁石と中空軸部材に設けられる電磁石とからなる微量分注針体。

【請求項3】請求項1において、中空軸部材と試料収容体との接続箇所内に逆止部材を設け、可動子による吐出時に試料収容体の開口を開放して試料溶液を中空軸部材内に流入可能にする一方、試料溶液の非吐出時には逆止部材により試料収容体の開口を閉鎖可能にした微量分注針体。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】この発明は、DNAやオリゴヌクレオチド等の各種遺伝子や必要に応じて蛍光標識を含有した多成分物質等の各種試料を基板上に0.2〜5n1のナノ・リットル単位で微量分注して試料チップを作製するのに適した微量分注針体に関する。

【0002】

【発明が解決しようとする課題】例えばDNAやオリゴヌクレオチド等の遺伝子発現及び探索の研究においては、基板上に多種類で多量の遺伝子をナノ・リットル単位で微量分注して固定した遺伝子チップを使用している。

【0003】この遺伝子チップを作製する際、先端直径が50〜200μmで縦割り溝の溜まり部が設けられたステンレス製やセラミック製の分注針の先端をチップ基板表面における各セルに押し付けて溜まり部内の遺伝子溶液を、その表面張力により流出させてドット状に分注する所謂スタンプ方式により行っていた。

【0004】しかしながら、上記した分注針を使用して遺伝子溶液を微量分注して遺伝子チップを作製する場合、分注初期と後期とでは溜まり部内における遺伝子溶液の量が徐々に少なくなることにより分注量が異なってしまう、定量分注できなかった。この結果、遺伝子発現及び探索の精度を一定に保つことが困難であった。

【0005】又、上記分注針を使用して多種類の遺伝子溶液を基板上に分注するには、分注する遺伝子の種類を変える毎に分注針を洗浄及び乾燥処理する必要があるが、分注針に付着した遺伝子溶液を洗浄及び乾燥処理により完全に除去することが困難で前の遺伝子が残溜するおそれがあり、遺伝子発現及び探索を正確に行えない間

題を有している。又、洗浄及び乾燥装置を備えた遺伝子チップ作製装置は装置自体が複雑化及び高コスト化する問題をも有していた。

【0006】更に、遺伝子チップはチップ基板上に多種類の遺伝子溶液を、例えば200μm等の微小間隔をおいて分注して作製しているが、分注作業の短時間化を図る必要から多数の分注針を上記間隔で配列した集積分注針体を使用している。この場合にあっては、遺伝子溶液が溜められる試験管等の試料トレイ上における試料容器ピッチと集積分注針体における針ピッチを等しくする必要があるが、集積密度を高くするには限界があり、又それぞれの試料トレイ内に集積分注針体を没入して所望の遺伝子溶液を取り出すのに時間がかかり、作製効率が悪かった。

【0007】本発明は、上記した従来の欠点を解決するために発明されたものであり、その課題とする処は、基板に対して試料を定量分注することができる分注針ユニットを提供することにある。

【0008】又、本発明の他の課題は、特定の試料のみを確実に分注することができ、しかもチップ作製装置を簡易化及び低コスト化することができる微量分注針体を提供することにある。

【0009】更に、本発明の他の課題は、多種類の試料チップを効率的に作製することができる微量分注針体を提供することにある。

【0010】又更に、本発明の他の課題は、試料を分注針単位で一体管理することができる微量分注針体を提供することにある。

【0011】

【問題点を解決するための手段】このため本発明は、試料プレート上にて試料が吸着固定されるセルの配置分解能に応じた軸径からなり、軸先端部が小径に形成された中空軸部材と、該中空軸部材内にて軸線方向へ移動可能に微小間隙を有して遊嵌される可動子と、中空軸部材に設けられ、分注される試料溶液が予め溜められた試料収容体と、可動子を軸線方向へ移動する駆動部材とからなり、可動子の移動駆動に伴って一体化された試料収容体から中空軸部材の微小間隙内に流入した試料溶液を微量で定量吐出することを特徴としている。

【0012】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施形態を図に従って説明する。図1は集積分注針ユニットの全体斜視図である。図2は図1のII-II線縦断面図である。図3は図2のA箇所を拡大して示す部分断面図である。図4は図2のB箇所を拡大して示す部分断面図である。図5は図2のC箇所を拡大して示す部分断面図である。図6は試料チップ作製装置の概略を示す全体斜視図である。図7は試料が分注される基板の一部を示す斜視図である。図8は図7のVIII-VIII線縦断面図である。

【0013】集積分注針ユニット1は、例えば6本の微

3

量分注針体3を相互が試料プレート5に対する分注分解能、例えば200 μ mになるように一列状に集積固定されている。

【0014】各微量分注針体3の本体チューブ7は中空軸部材を構成し、外径が、例えば上記した200 μ mで、内部にシリンダー室9が形成される。又、本体チューブ7の先端部は内径が、例えば40～50 μ mからなる先細形状の針端部7aに形成される。

【0015】又、各本体チューブ7には可動子としての可動針11が、シリンダー室9の内周面に対して微小間隙を有して軸線方向へ移動可能に遊嵌される。該可動針11は分注針端部7aの内径より若干小径、例えば30 μ mで、上部に筒状の永久磁石13が固定される。

【0016】そして各本体チューブ7の上部には、分注しようとするDNAやオリゴヌクレオチド等の遺伝子や必要に応じて蛍光標識を含有した各種成分物質等の試料溶液15が予め充填された試料収容体17が取付けられている。試料収容体17内に充填される試料溶液15は微量分注針体3毎に管理されている。

【0017】そして上方へ移動した可動針11上部と試料収容体17下部との間には逆止部材としてのボール弁19が設けられ、該ボール弁19により試料収容体17の下部開口を開閉して本体チューブ7内に流入される試料溶液15の量を定量化している。

【0018】尚、永久磁石13下部に応じた本体チューブ7内には圧縮ばね等の弾性部材21が取付けられ、該弾性部材21の弾性力により可動針11を常に軸線上方へ付勢し、ボール弁19を試料収容体17の下端開口に当接して閉鎖させる。

【0019】本体チューブ7の外周には電磁石23が設けられ、該電磁石23に印加される駆動パルスにより可動針11を軸線下方へ磁気駆動して針端部7a内に溜まった試料溶液15を定量吐出させる。

【0020】尚、可動針11を軸線下方へ移動させる電磁石23は各微量分注針体3毎に設けた構造であっても、又は所定数の微量分注針体3相互を集積した集積分注針ユニット1の全体に亘る大きさの電磁石23を取付けた構造であってもよい。図1は後者の実施形態を示す。

【0021】そして上記集積分注針ユニット1は、試料チップ作製装置25のホルダ27に取付けられる。即ち、試料チップ作製装置25には相対する前後一對のX軸フレーム29が設けられ、該X軸フレーム29にはY軸フレーム31がX軸方向へ移動可能に支持されている。該Y軸フレーム31はX軸フレーム29内に設けられた数値制御可能な電動モータと送りねじ又はタイミングベルト等からなるX軸駆動機構（何れも図示せず）に連結され、該X軸駆動機構の駆動に伴ってX軸方向へ移動制御される。又、Y軸フレーム31には可動体33がY軸方向へ移動可能に支持され、該可動体33は上記し

4

たX軸駆動機構と同種構造のY軸駆動機構（図示せず）に連結される。そして可動体33はY軸駆動機構の駆動に伴ってY軸方向へ移動制御される。

【0022】可動体33に設けられたホルダ27にはエアシリンダ等のZ軸駆動機構35が連結され、該Z軸駆動機構35には集積分注針ユニット1が取り付けられる。そして集積分注針ユニット1はZ軸駆動機構35によりZ軸方向へ移動される。

【0023】試料チップ作製装置25の分注台26には後述する単一又は複数の試料プレート37が予め設定された位置に配置される。即ち、試料溶液15が分注される試料プレート37の基板39はガラス板或いはポリアミド樹脂板等からなり、該基板39表面には、例えば幅が30 μ m、膜厚2～10 μ mの疎水性被膜39aが分注数に対応するセル39bを形成するように格子状に被覆形成されている。該疎水性被膜39aとしてはポリフルオロエチレン樹脂（商品名：テフロン、デュボン社製）やシリコン樹脂或いは金薄膜が適している。

【0024】そして疎水性被膜39aにより区画された各セル39b内には親水性被膜39cが充填成される。セル39b数としては基板391枚当たり、例えば行方向：30×列方向：30の合計900セルに設定されるが、これに限定されるものではない。又、親水性被膜39cとしては分注される試料分子に対する結合手を有した分子構造からなり、例えば試料がDNAの場合にはポリリジンが適している。

【0025】尚、疎水性被膜39aの形成方法としては印刷法、フォトリソグラフィ法、エッチング法等、又親水性被膜39cの形成方法としてはディッピング法、フローコート法等の何れであってもよい。

【0026】次に、微量分注針体3による分注作用を説明する。図9は分注状態を示す部分縦断面図である。

【0027】試料チップ作製装置25のX軸及びY軸駆動機構を夫々数値制御して集積分注針ユニット1を、それぞれの微量分注針体3が分注台26上に載置された試料プレート37における各セル39bに相対するように移動させる。

【0028】上記状態にてZ軸駆動機構35を駆動して集積分注針ユニット1を下方へ移動して各微量分注針体3の先端部を相対するセル39b内の親水性被膜39cに近接又は当接させた後に電磁石23を駆動して可動針11を、弾性部材21の弾性力に抗して本体チューブ7内の軸線下方へ移動させる。これにより本体チューブ7の針端部7a内に溜められていた試料溶液15を各セル39bの親水性被膜39c上に分注させる。

【0029】このとき、軸線下方に対する可動針11の移動に伴って試料収容体17の下端部を閉鎖していたボール弁19は可動針11と共に下方へ移動し、試料収容体17内の試料溶液15を本体チューブ7内へ流入させる。又、親水性被膜39cに対する試料溶液15の分注

10

20

30

40

50

量は可動針11の移動量に応じて定量化される。更に、親水性被膜39c上に分注された試料溶液15は該親水性被膜39cの親水作用によりセル39b内にて全体的に広がり、濃度が均一化される。

【0030】更に、各セル39b内に分注された試料溶液15は疎水性被膜39aにより隣接する他のセル39b内に滲み出して他の試料溶液15と混ざり合うことが防止される。

【0031】上記分注後、Z軸駆動機構35を復動して集積分注針ユニット1を上方へ移動して各微量分注針体3の先端面を試料プレート37から離間させると共に電磁石23の磁気駆動を中断し、可動針11を弾性部材21の弾性力により軸線上方へ移動させて初期位置に戻す。このとき、可動針11の移動に伴ってボール弁19を試料収容体17の下端開口に当接させて閉鎖し、本体チューブ7内に余分な試料溶液15が流入するのを規制する。

【0032】次に、X軸及びY軸駆動機構を駆動して集積分注針ユニット1を、本実施形態にあっては6セル分の距離、X軸或いはY軸方向へ移動して次に分注しようとする各セル39bに各微量分注針体3を相対させた後、上記動作の繰り返しにより試料プレート37における各セル39bに対して夫々の試料溶液15を定量分注させる。

【0033】上記分注作業により試料収容体17内に充填されていた試料溶液15の全てが分注されて消費された際には、予め試料収容体17内に予め所定量の試料溶液15が充填されて管理された新たな集積分注針ユニット1に交換して分注作業を行う。この場合、電磁石23を各微量分注針体3の結束ホルダを兼ねた構造とすることにより集積分注針ユニット1全体を交換することなく、個々の本体チューブ7及び試料収容体17のみを取り替えればよい。又、試料プレート37上に分注する試料溶液15の種類を変える場合には、分注しようとする試料溶液15が予め試料収容体17内に充填されて管理された微量分注針体3若しくはこれら分注針体3がセットされた集積分注針ユニット1に取り換えればよい。

【0034】本実施形態は、予め試料溶液15が溜められた試料収容体17を設けた微量分注針体3を使用し、分注作業に伴って試料収容体17から所定量の試料溶液15を本体チューブ7内に流入させて分注するため、試料溶液15の分注量を一定化することができる。

【0035】又、試料溶液15が分注針体3又は集積分注針ユニット1毎に管理されるため、従来の分注針を使用した分注作業に比べ、分注作業毎に分注針を洗浄及び乾燥処理する必要がなく、試料チップの作製時間を短縮できると共に装置を簡易化することができる。

【0036】更に、分注しようとする試料を微量分注針

体3若しくは集積分注針ユニット1毎に管理することができる。

【0037】上記説明は、本体チューブ7内にボール弁19を設け、該ボール弁19により試料収容体17の下端開口を開閉して本体チューブ7内に対する試料溶液15の流入量をほぼ一定化して定量吐出を可能にする構成としたが、ボール弁19を設けることなく、分注する際には可動針11を、試料溶液15の粘性に打ち勝つ高速で移動させる一方、可動針11を戻す際には試料溶液15の粘性に応じた低速で移動させるように電磁石23を駆動制御して試料収容体17内における試料溶液15の重力とその粘性とを釣り合わせて定量吐出してもよい。

【0038】又、分注する試料溶液15に、分子運動に伴って粘性が低下するシクソトロピー性を与え、常態においては試料溶液15自体の粘性により流出を不能にする一方、分注時には電磁石23に交流電流を印加して可動針11を振動させて試料溶液15の粘性を低下させることにより定量吐出させてもよい。

【0039】

【発明の効果】このため本発明は、基板に対して試料を定量分注することができる。又、本発明は、特定の試料のみを確実に分注することができ、しかもチップ作製装置を簡易化及び低コスト化することができる。更に、本発明は、多種類の試料チップを効率的に作製することができる。又更に、本発明は、試料を分注針単位で管理することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】集積分注針ユニットの全体斜視図である。

【図2】図1のII-II線縦断面図である。

【図3】図2のA箇所を拡大して示す部分断面図である。

【図4】図2のB箇所を拡大して示す部分断面図である。

【図5】図2のC箇所を拡大して示す部分断面図である。

【図6】試料チップ作製装置の概略を示す全体斜視図である。

【図7】試料が分注される基板の一部を示す斜視図である。

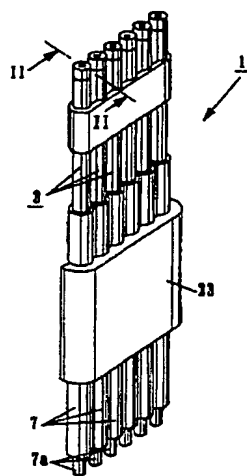
【図8】図7のVIII-VIII線縦断面図である。

【図9】分注状態を示す縦断面図である。

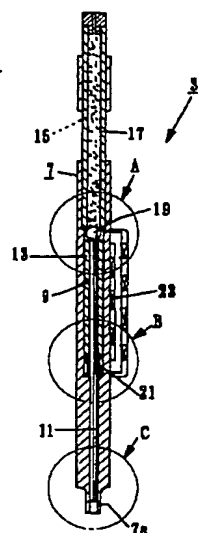
【符号の説明】

1-集積分注針ユニット、3-微量分注針体、5-試料プレート、7-中空軸部材を構成する本体チューブ、7a-中空軸部材を構成する分注針端部、11-可動針としての可動針、15-試料溶液、17-試料収容体としての試料収容体、23-駆動部材を構成する電磁石、39b-セル

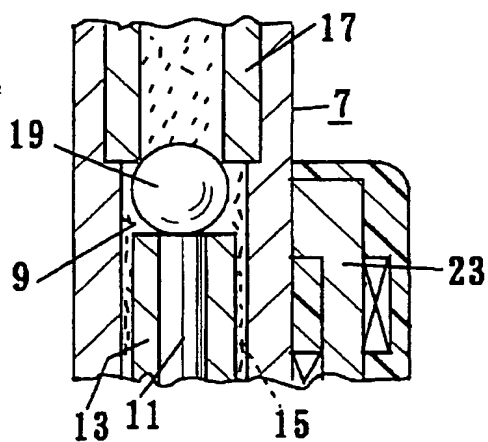
【図1】



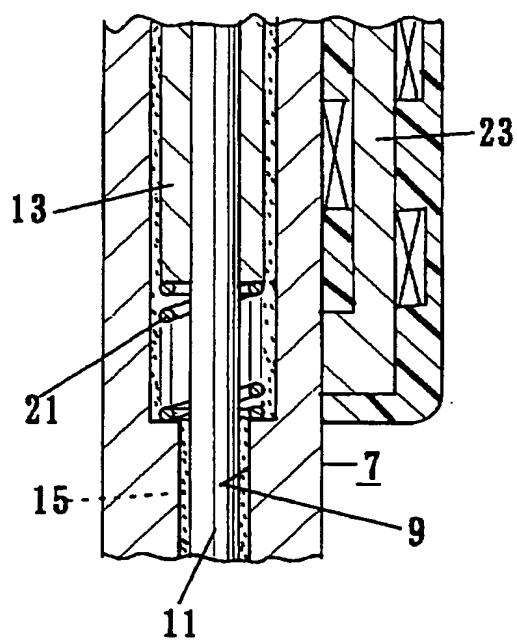
【図2】



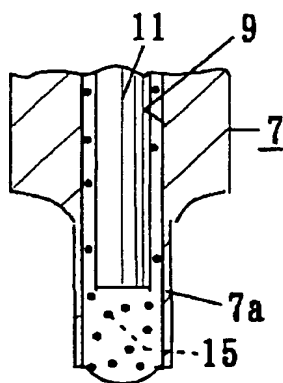
【図3】



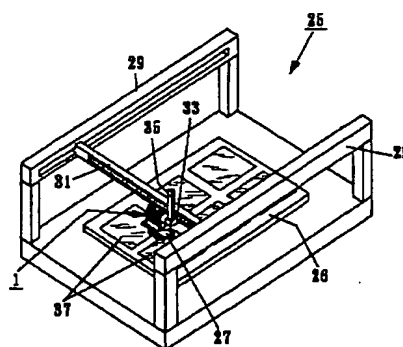
【図4】



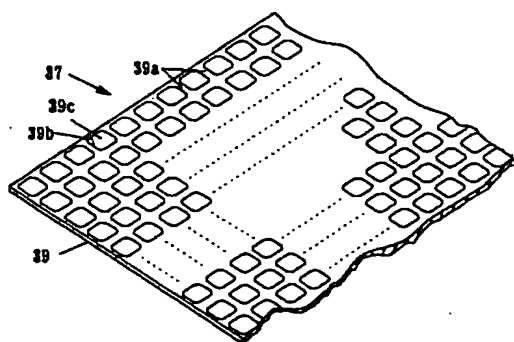
【図5】



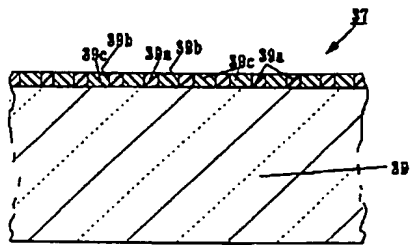
【図6】



【図7】



【図8】



【図9】

